

e-ISSN 2953-5441
Vol. 2(2): 128-140

ARTÍCULO INVITADO

Biología de Digeneos Larvales Asociados a Planórbidos Dulceacuícolas de Salta, Argentina

Biology of Larval Digeneans Associated to Freshwater Planorbids from Salta, Argentina

DoraDavies[1] & Margarita Ostrowski de Núñez†

[1] Instituto para el Estudio de la Biodiversidad de Invertebrados, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Avenida Bolivia 5150, 4400, Salta, Salta, República Argentina. dadaviesar@gmail.com

RESUMEN

En esta contribución se detallan atributos morfológicos y morfométricos de estadios precercarianos, cercarias y metacercarias pertenecientes a 3 taxones (cf. *Drepanocephalus* sp., *Neopetasiger* sp. y cf. *Cephalogonimus* sp.) asociados a los gasterópodos planórbidos *Biomphalaria tenagophila* y *B. orbignyi* que habitan en 3 cuerpos de agua de Salta, Argentina. Además, se describen características etológicas de las cercarias y se informan los animales en los que se desarrollaron metacercarias en condiciones experimentales, así como aquellos que resultaron refractarios a las infecciones por cercarias. La información mejora el conocimiento de la diversidad de digeneos larvales del orden Plagiorchiida en la región Neotropical y de las interrelaciones que se establecen en las comunidades dulceacuícolas estudiadas.

Palabras clave: Cercarias; Plagiorchiida; *Biomphalaria;* Infecciones experimentales.

ABSTRACT

This contribution presents details about morphological and morphometrical characteristics of precercarial, cercarial and metacercarial stages belonging to 3 taxa (cf. *Drepanocephalus* sp., *Neopetasiger* sp. and cf. *Cephalogonimus* sp.) associated with the planorbid gasteropods *Biomphalaria tenagophila* and *B. orbignyi* that inhabit 3 water bodies in Salta, Argentina. Moreover, the ethology of cercariae is described, including the report of animals that developed metacercariae under experimental conditions, as well as those that were refractory to cercarial infections. The information gathered in this work improves the knowledge about the diversity of Plagiorchiida digenean larvae in the Neotropical region, and the interactions established in the studied freshwater communities.

Keywords: Cercariae; Plagiorchiida; *Biomphalaria;* Experimental infections.

Davies, D., & Ostrowski de Núñez, M. (2024). Biología de Digeneos Larvales Asociados a Planórbidos Dulceacuícolas de Salta, Argentina. *Revista Ciencias Naturales*, 2(2), 128–140.

https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s29535441/1eg0uq97w

Recibido: 12/4/2024 Aceptado: 6/7/2024 Publicado: 15/8/2024 Editora: Olga Martínez

INTRODUCCIÓN

Los ciclos de vida complejos se caracterizan por grandes cambios morfológicos y/o ecológicos en el transcurso de la ontogenia (Benesh, 2016). Los digeneos (Platyhelminthes: Trematoda) presentan este tipo de ciclo, con una secuencia de estadios larvales únicos muy diferentes en cuanto a morfología y ecología: miracidios, esporoquistes, redias, cercarias y metacercarias, pudiendo faltar redias y/o metacercarias en algunos grupos (Galaktionov & Dobrovolskij, 2003).

La inmensa mayoría de las especies utiliza un vertebrado como hospedador definitivo, en el que se desarrollan los adultos y producen descendencia a través de la reproducción sexual, liberando al ambiente los huevos dentro de los que se desarrolla el miracidio (Bush *et al.,* 2001). Los miracidios, en los gasterópodos o bivalvos que actúan como hospedadores intermediarios primarios, originan esporoquistes y posteriormente redias; ambos con la capacidad de producir asexualmente nuevos esporoquistes o redias, que aumentan la carga parasitaria del molusco. Los esporoquistes (si la especie no produce redias) o las redias generan numerosas cercarias, que abandonan al molusco y que, según el grupo al que pertenecen, pueden ingresar activamente al hospedador definitivo y diferenciarse en adultos o enquistarse como metacercaria en el ambiente o en un hospedador intermediario secundario. Si un vertebrado adecuado consume las metacercarias enquistadas, éstas originan los adultos (Ruiz, 1952, Cribb *et al.,* 2003).

Las cercarias pueden pertenecer a especies autogénicas o alogénicas; las primeras completan su ciclo vital en un mismo ambiente, generalmente ambientes acuáticos, con lo que los hospedadores intermediarios y definitivos se encuentran confinados al agua, siendo los peces los típicos hospedadores definitivos; las especies alogénicas, en cambio, desarrollan su ciclo vital utilizando hospedadores acuáticos y terrestres; las aves y los mamíferos constituyen los hospedadores definitivos más comunes (Esch *et al.,* 1998).

A pesar de la gran cantidad de información que pueden brindar los ciclos parasitarios, ya que los distintos estadios de digeneos aportan información sobre los hospedadores, las redes tróficas, la epidemiología de enfermedades de importancia médica y veterinaria, la estructura y los cambios de las comunidades y diversos atributos de los ecosistemas, es pobre el conocimiento que se tiene de ellos (Olson & Tkach, 2005, Faltýnková *et al.,* 2008, Choudhury *et al.,* 2016, Blasco Costa & Poulin, 2017).

Por otro lado, una especie de digeneo sólo será totalmente conocida si se conocen las particularidades morfológicas y ecológicas de las distintas fases de su ciclo vital (Blasco Costa & Poulin, 2017). Históricamente las cercarias han sido el estadio larval más estudiado debido a la gran cantidad de ejemplares liberados al agua diariamente por los moluscos hospedadores, aun con el inconveniente de su corta vida (48 a 72 h), la necesidad de observar *in vivo* su morfología y la ausencia de caracteres diagnósticos relacionados con los sistemas reproductivos, con lo que la identificación a nivel específico, genérico o incluso de familia es dificultosa (Ostrowski de Núñez, 1992, Galaktionov & Dobrovolskij, 2003, Huguenin *et al.,* 2019).

Los estudios experimentales referidos a la transmisión de cercarias proporcionan información sobre aspectos ecológicos o epidemiológicos, contribuyen a elucidar o corroborar ciclos vitales y permiten evaluar la aptitud de ciertas especies hospedadoras frente a determinadas especies parásitas (Poulin, 2010).

Con el advenimiento de las técnicas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se pueden complementar los estudios experimentales con la amplificación y secuenciación de marcadores moleculares, es decir regiones conservadas de ADN nuclear (ITS 1, ITS 2, 18S y 5.8S son las más utilizadas) o mitocondrial (CO1) de larvas y/o adultos, para comparar entre las secuencias obtenidas de distintos estadios con datos disponibles en GenBank (Pérez-Ponce

de León *et al.,* 2016). Esto ha hecho posible identificar géneros y especies y corroborar o dilucidar ciclos vitales con mayor precisión y rapidez (Nolan & Cribb, 2005, Blasco Costa *et al.,* 2016).

En Argentina Merlo *et al.,* (2021) sistematizaron la información referida a cercarias y metacercarias reportadas en cuerpos acuáticos continentales de Argentina durante los últimos cien años, mencionando los hospedadores intermediarios y definitivos, en caso de haber sido indicados en los trabajos originales. Sin embargo, hay reportes –entre ellos algunos de Salta- que no cuentan con descripciones detalladas de las larvas.

El presente trabajo intenta complementar la información publicada por Merlo *et al.,* (2021), detallando la morfología y ecología de 3 morfotipos de cercarias emergidas naturalmente de los gasterópodos pulmonados *Biomphalaria tenagophila* y *B. orbignyi* en ambientes acuáticos de Salta. Se incluyen los estadios precercarianos que las producen y los resultados de infecciones experimentales en las que se examinó la competencia de distintos animales frente a la exposición de dichas cercarias y al desarrollo de metacercarias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los hospedadores intermediarios primarios *B. tenagophila* y *B. orbignyi* se recolectaron en los embalses Campo Alegre a 29 km al norte de la ciudad de Salta, (24º34’28” S - 65º21’54” O) y Puerta de Díaz, a 67 km al sur de la ciudad de Salta, (25º16’16” S - 65º31’26” O) y en un charco formado por el aporte de una acequia en la zona de Tres Palmeras, al suroeste de la ciudad de Salta (25º16’16” S - 65º31’26” O).

Los gasterópodos se capturaron durante los años 2004 a 2014 con tamices de abertura de malla de 1 mm. En el trienio 2005-2007 se realizaron muestreos sistemáticos realizados durante 1 hora y abarcando las cuatro estaciones del año. Los demás muestreos fueron esporádicos. Se contó con permisos de la Secretaría de Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Provincia de Salta.

Los gasterópodos se trasladaron envueltos en papel húmedo al laboratorio y se mantuvieron en recipientes individuales con agua declorada y alimentados con lechuga. Durante 7 días se observó el agua bajo lupa para detectar las cercarias emergidas; posteriormente se disecaron todos los gasterópodos para detectar otros estadios larvales de digeneos.

La morfología y comportamiento de las cercarias se estudió *in vivo.* Se utilizó solución de tylosa y los colorantes vitales azul nilo y rojo neutro. Las mediciones de las estructuras se realizaron con ocular micrométrico sobre cercarias fijadas en formol 4% caliente. Los esporoquistes y redias y las metacercarias desenquistadas con finas agujas o con tripsina en medio alcalino a 37 °C se estudiaron de manera similar a las cercarias. La cantidad de ejemplares medidos se expresa como N. La longitud y el ancho (L x A) se expresan en micrómetros (µm) con la media seguida de la mínima y máxima entre paréntesis.

Para establecer la aptitud de distintos animales como hospedadores intermediarios secundarios se expusieron cercarias recién emergidas a los posibles hospedadores en recipientes individuales y se los examinó al cabo de 24 h y días subsiguientes. Los animales utilizados en las exposiciones se criaron en laboratorio o se capturaron de sitios en los que no había poblaciones de planórbidos y se mantuvieron en laboratorio hasta los experimentos de infección. En cada caso se indica la cantidad de días transcurridos postexposición (PE), es decir desde la exposición del hospedador a las cercarias hasta su disección.

La prevalencia (proporción de individuos parasitados por un taxón parásito en la muestra de gasterópodos) se calculó según Bush *et al.,* (1997) para las muestras obtenidas durante 2005 a 2007.

Los helmintos se depositaron en la colección del IEBI (Instituto para el estudio de la biodiversidad de invertebrados), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta.

RESULTADOS

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Superfamilia Echinostomatoidea Looss, 1899

Fam. Echinostomatidae Looss, 1899

Gén. Cf. *Drepanocephalus* Dietz, 1909

Cf. *Drepanocephalus* sp.

Hospedador: *Biomphalaria tenagophila*

Sitios: charco de Tres Palmeras, embalse Campo Alegre

Prevalencia: 0,03% (2:2864) en charco Tres Palmeras; 0,8% (5:638) en embalse Campo Alegre

Redias (Fig. 1A): N=12 ejemplares provenientes de infecciones naturales. Redias de intenso color amarillo, 2070 (1728-2419) x 235 (171-317) con un par de apéndices locomotores posteriores; faringe fuerte, 49 (42-66) x 60 (47-78); ciego bien desarrollado que sobrepasa la mitad del cuerpo. Contienen hasta 3 cercarias maduras y varias masas germinales. Se ubican en la glándula digestiva, aunque también se las encontró sobre otros órganos como tubo digestivo y uréter en infecciones masivas.

Cercarias (Fig. 1B-C): N=20 cercarias emergidas de *B. tenagophila,* de Campo Alegre. Tipo echinocercarias. Cuerpo: 358 (314-412) x 178 (147-216). Tegumento grueso, cubierto de pequeñas espinas; seis pares de pelos sensitivos, ubicados lateralmente, entre la faringe y el nivel posterior de la ventosa ventral; collar cefálico de espinas formado por 27 espinas: 4 espinas angulares de cada lado de 16-19, 5 laterales a cada lado de 7-8 en una hilera y 9 espinas centrales de 13-16 dispuestas en dos hileras. Ventosa oral de 43 (39-47) x 40 (29-49); ventosa ventral un poco más grande que la oral, 52 (44-59) x 59 (49-66), ambas con bordes festoneados. Prefaringe presente, corta, con tres pares de glándulas prefaringeales alargadas; faringe pequeña, de 28 (22-34) x 17 (15-22), seguida de un largo esófago septado y granulado. Los ciegos, bien desarrollados y de contenido granular, se bifurcan a nivel del borde anterior de la ventosa ventral y llegan hasta el extremo posterior del cuerpo. Ocho glándulas de penetración desembocan en el borde anterior de la ventosa oral. Glándulas cistógenas con contenido en barras. Fórmula flamígera: 2(3+3+3+3+3)= 30 y 6-9 flamígeras intercalares. Conductos principales de los canales excretores con 21-29 gránulos de entre 7 y 17 µm de diámetro, de paredes gruesas. Vesícula excretora con una pequeña cámara anterior que conecta con los conductos excretores principales anterolateralmente y una cámara posterior más grande que conecta con el canal excretor que desemboca en el extremo de la cola. Cola de mayor longitud que el cuerpo, 628 (560-668) x 55 (49-59), sin velos natatorios. Relación L cola:Lcuerpo: 1,76 (1,50-1,91).

Comportamiento: Emergen durante la noche. Fototactismo positivo. Sobreviven 24 horas.

Infecciones experimentales: Se expusieron cercarias a 18 renacuajos (*Rhinella* sp., *Pleurodema borelli*), a 6 peces (2 madrecitas *Jenynsia* sp, y 4 mojarritas, *Astyanax* sp.) y a 10 ejemplares de *B. tenagophila*. Se hallaron metacercarias en renacuajos y peces a 2 y 4 días PE; no penetraron en los moluscos.

Metacercarias (Fig. 1D-F): N=30 quistes recuperados de renacuajos infectados experimentalmente 4 días PE. Quistes ovales, de pared delgada, 192 (147-226) x 142 (167-118). En la metacercaria se distinguen las dos ventosas, la faringe, esófago y ciegos desarrollados, los corpúsculos refringentes de 11 (10-15) de diámetro y el collar de grandes espinas, en número de 27, de 22 (15-27); son visibles además las glándulas prefaringeales. En peces los quistes (N=3) hallados en las branquias aparecen más grandes: 224 x 172.

Infecciones experimentales: Metacercarias obtenidas experimentalmente en renacuajos se administraron a 3 ratones (*Mus musculus*), 3 patitos (*Anas platyrhynchos*) y 2 pollitos (*Gallus domesticus*). A 3, 6 y 12 días PE no se encontraron adultos.

Comentarios: La familia Echinostomatidae es cosmopolita y muestra una gran diversidad;

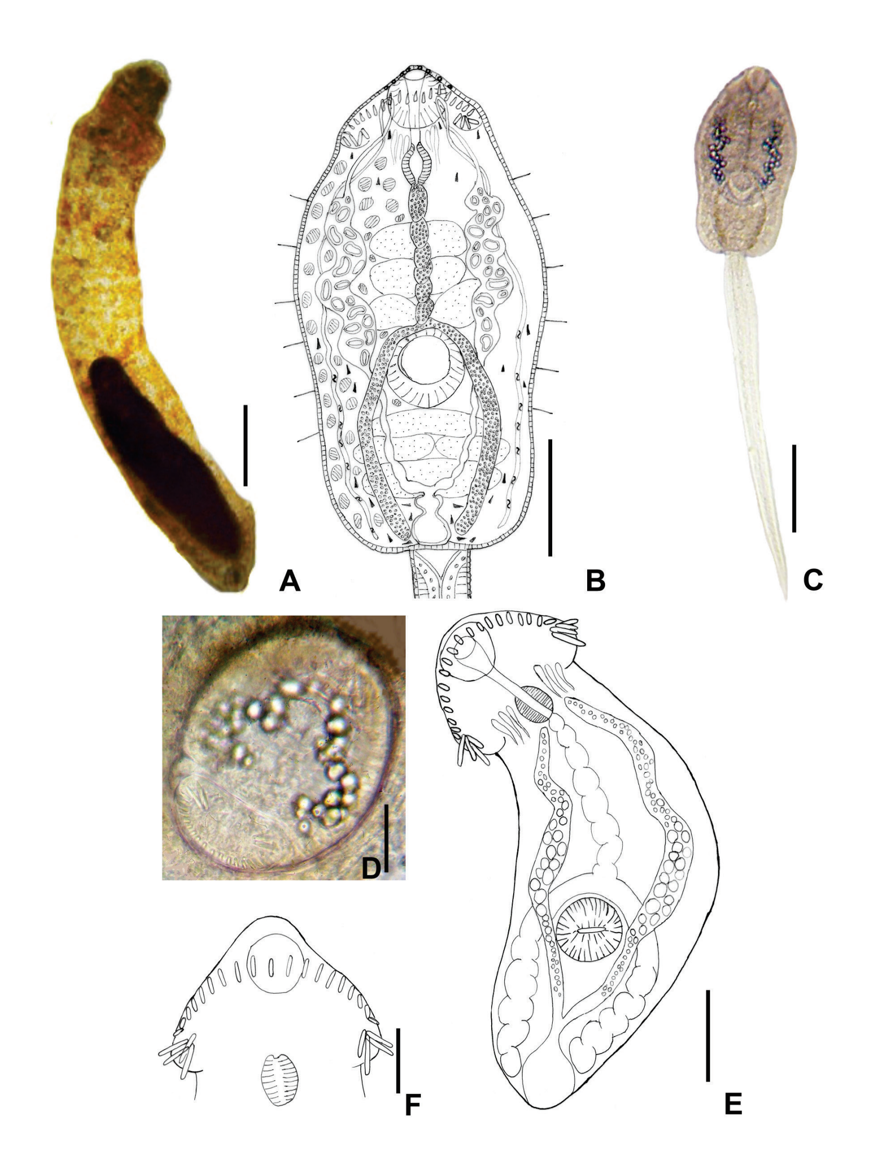


Figura 1. Cf. *Drepanocephalus* sp. **A.** Redia *in vivo*. **B.** Cuerpo de la cercaria. **C.** cercaria, *in vivo*, en posición de reposo. **D.** Quiste *in vivo* obtenido de infección experimental en ejemplares de *Astyanax* sp. **E.** Metacercaria. **F.** Detalle de la corona de espinas. Escalas: A, C: 200 μm; B, E: 100 μm; D, F: 50 μm.

comprende 10 subfamilias y 44 géneros (Tkach *et al.* 2016), aunque hay confusión en la sistemática porque hay homogeneidad interespecífica de caracteres y porque la diagnosis diferencial entre especies es pobre en los nuevos taxa descriptos (Toledo *et al.*, 2009).

Las cercarias del presente estudio son identificadas como cf. *Drepanocephalus* por tener 27 espinas, de las cuales las 2x4 angulares son mucho más grandes que las restantes, ventosas rodeadas por un borde con crestas, ausencia de saco prefaríngeo y por enquistar en peces y larvas de anfibios. Los ciclos conocidos de *Drepanocephalus* son alogénicos, tienen 3 hospedadores, con pulmonados planórbidos, peces o anfibios y aves piscívoras -*Phalacrocorax* y *Sula*- en América. (Yamaguti, 1971; Kostadinova, 2005, Pinto *et al.* 2015, Tkach *et al.* 2016). Pinto *et al.,* (2015) caracterizan morfológica y molecularmente 2 morfotipos de cercarias y redias procedentes de *B. straminea* de Brasil y parte de sus ciclos vitales, que resultan muy semejantes a lo encontrado en este estudio, identificándolos como *D. auritus* y *Drepanocephalus* sp. y, al igual que en el

caso aquí descripto fallaron en obtener los adultos experimentalmente; sin embargo, la cercaria encontrada en Salta presenta 3 pares de glándulas prefaríngeas, ausentes en ambos morfotipos de Brasil.

En Argentina cercarias similares a la aquí estudiada fueron reportadas por Ostrowski de Núñez *et al.* (1991) emergida de *B. occidentalis* en Corrientes y por Martorelli (2003) emergida de *B. tenagophila* y *B. straminea* en Uruguay, pero ambas tienen tegumento sin espinas, 28 pares de células flamígeras y la primera presenta cuerpo prefaríngeo formado por gránulos refráctiles, por lo que a la luz de los conocimientos actuales pertenecerían al género *Petasiger* (Tkach *et al.,* 2016). Se ha registrado a *Drepanocephalus spathans* y otros adultos con 27 espinas: *Petasiger segregatum* (*Paryphostomum segregatum)* y *P. fragosum* en *Phalacrocorax brasilianus* (Ostrowski de Núñez, 1968); esta especie de ave es común en ambientes acuáticos de Salta, por lo que podría actuar como hospedador definitivo.

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Superfamilia Echinostomatoidea Looss, 1899

Fam. Echinostomatidae Looss, 1899

Género *Neopetasiger* Baschkirova, 1941

Neopetasiger sp.

Hospedadores: *Biomphalaria tenagophila* y *B. orbignyi*

Sitio: embalse Campo Alegre y embalse Puerta de Díaz

Prevalencia: 0,31% (2:638) en embalse Campo Alegre; 0,32% (3:943) en embalse Puerta de Díaz.

Redias (Fig. 2A): N=10. Redias procedentes de ejemplares de *B. tenagophila* del embalse Campo Alegre, 861 (697-1080) x 166 (137-206). Faringe de 76 (59-98); el ciego se extiende hasta 504 (393-609). El collar cefálico se sitúa a un tercio del borde anterior y los apéndices locomotores posteriores a dos tercios. Las redias contienen hasta nueve cercarias maduras y hasta 34 masas germinales. Se ubican sobre la gónada y glándula digestiva del hospedador.

Cercarias (Fig. 2B-C): N=10. Cercarias tipo magnacauda (con cola muy larga) emergidas de ejemplares de *B. orbignyi* del embalse Puerta de Díaz. Cuerpo 139 (123-159) x 47 (34-69). Tegumento con espinas. Tres pares de pelos sensitivos, un par a la altura de la ventosa oral; un par lateral a la altura del borde anterior de la ventosa ventral y un par posterior a la altura de la vesícula excretora. Collar de 19 espinas, 2x4 angulares y 11 centrales en una fila ininterrumpida. Ventosa oral de 26 (25-29) x 25 (25-29). Ventosa ventral de 30 (25-34) x 28 (25-32). Prefaringe corta; faringe de 14 (12-15) x 3, con pigmentación amarilla en el lumen; esófago largo, que se bifurca antes de la ventosa ventral formando dos ciegos que sobrepasan el borde posterior de la ventosa ventral. Numerosas glándulas cistógenas de contenido en barra distribuidas por todo el cuerpo. Primordio genital posterior a la ventosa ventral; vesícula excretora bicameral, la cámara anterior más pequeña recibe anterolateralmente los conductos excretores; la cámara posterior se continúa con una gran cámara en la cola. Hay 13-24 gránulos de 5 (2-7) de diámetro en los conductos excretores principales. Se observaron 8 pares de células flamígeras, aunque podrían ser más, ya que la gran cantidad de células cistógenas impide localizarlas con claridad; hay además flamígeras intercalares. Cola muy larga, 1054 (982-1129) x 109 (93-125), con notorios músculos circulares y longitudinales. Relación longitud de la cola:longitud del cuerpo de 8 (7-9). Cercarias emergidas de ejemplares de *B. tenagophila* de Campo Alegre (N=17): cuerpo de 164 (113-193) x 55 (39-64); ventosa oral 27 (25-37) x 28 (25-37), ventosa ventral 29 (20-37) x 28 (20-32); cola: 524 (412-707) x 78 (44-103). Relación longitud de la cola:longitud del cuerpo de 3 (2-4).

Comportamiento. Emergen en horas de la noche y primeras de la mañana. Muestran fototaxismo positivo. Nadan con un movimiento ondulante en forma de “S”. En reposo permanecen flotando verticalmente con el cuerpo hacia arriba y la cola en línea recta con respecto al cuerpo.

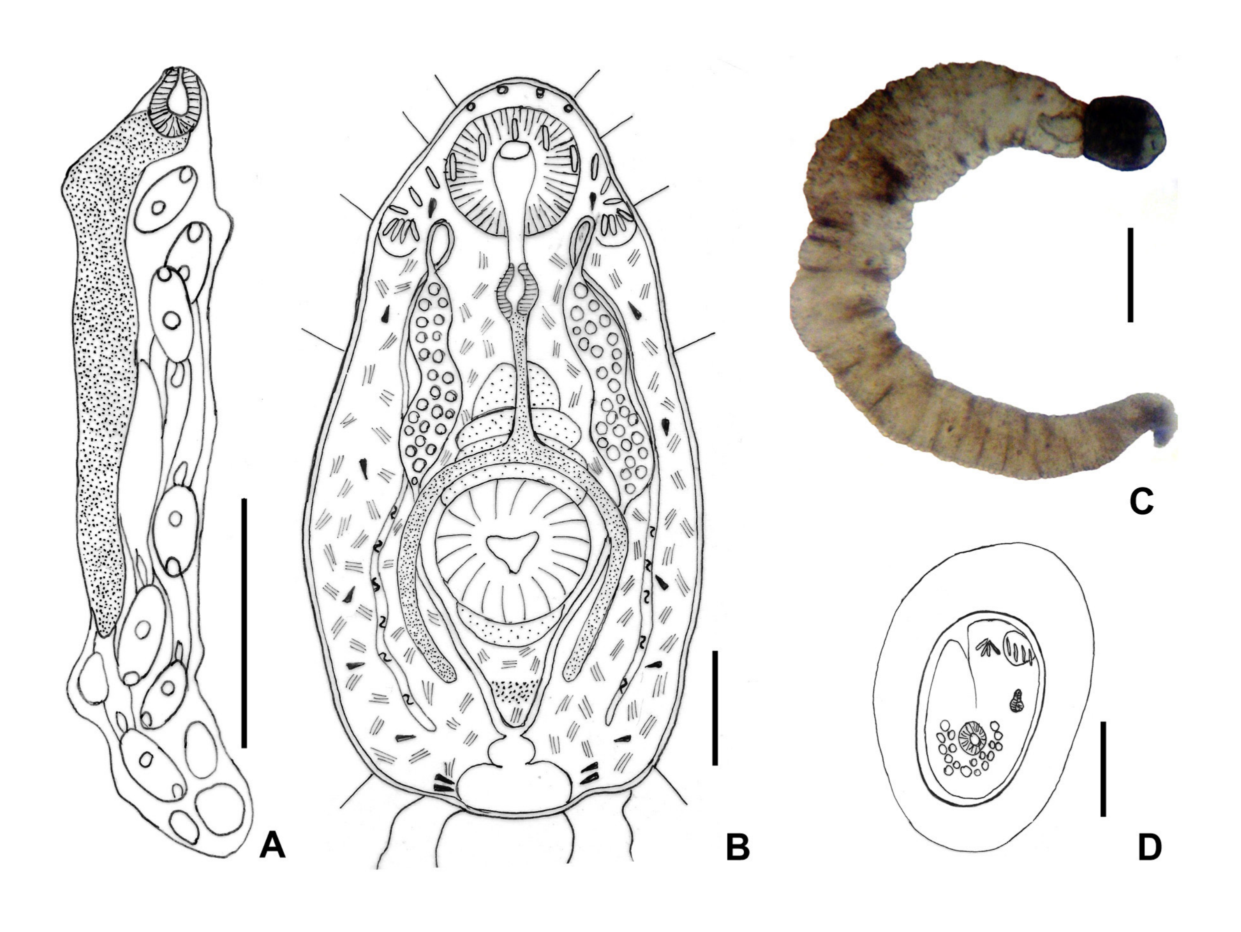


Figura 2. *Neopetasiger* sp. **A.** Redia. **B.** Cuerpo de la cercaria. **C.** Cercaria de *Biomphalaria orbignyi in vivo*. **D.** Metacercaria enquistada. Escalas: A, C: 200 µm; B: 25 µm; D: 50 µm.

Infecciones experimentales. Se expusieron cercarias emergidas de *B. tenagophila* y *B. orbignyi* a 10 ejemplares de *Astyanax* sp., 7 de *Apistogramma borellii* y 7 de *Bryconamericus thomasi.* En todos los casos las cercarias fueron ingeridas por los peces y las metacercarias se enquistaron en la faringe y el esófago y en menor cantidad en las branquias.

Metacercarias (Fig. 2D): N=20. Los quistes experimentales recuperados a partir de cercarias procedentes de ejemplares de *B. orbignyi* del embalse Puerta de Díaz (N=20) son de forma oval, 83 (91-76) x 51 (76-42), con un espesor de la pared quística de 2 (3-5) y de la pared secretada por el hospedador de 12 (7-20). Los quistes obtenidos experimentalmente a partir de cercarias emergidas de ejemplares de *B. tenagophila* del embalse Campo Alegre (N=20) midieron 95 (86-100) x 59 (49-66), con espesor la pared del quiste de 12 (7-17) y de la pared reaccional del hospedador de 19 (12-22).

Infecciones experimentales. Se administraron los quistes obtenidos experimentalmente a 3 patitos (*A. platyrhynchos*), 1 pollito (*G. domesticus*), 5 canarios (*Serinus canarius)*, todos ellos con resultado negativo a los 5, 12, 17 y 18 días PE.

Comentarios. Las cercarias son asignadas a *Neopetasiger,* siguiendo a Tkach *et al.,* (2016), quienes, sobre la base de un estudio integrativo de miembros de la familia Echinostomatidae reagrupan a las especies de *Petasiger* con 19 espinas en el género *Neopetasiger*, cuyas especies con ciclos conocidos poseen

cercarias magnacaudas, sin saco prefaríngeo y emplean una ruta trófica para la infección al segundo hospedador intermediario, caracteres presentes en las cercarias aquí estudiadas. Las especies de *Neopetasiger* son alogénicas, con 3 hospedadores. Los adultos se hallan en el intestino de aves piscívoras; las cercarias se desarrollan en gasterópodos planórbidos y las metacercarias en esófago y faringe de teleósteos dulceacuícolas (Faltyínková *et al.*, 2008). El género tiene distribución cosmopolita (Nasincová *et al.,* 1994).

Las especies con distribución neotropical *N. novemdecim* (Lutz, 1928), *N. combesi* (Zamparo, Overstreet y Brooks, 2005) y *N. argentinensis* (Lunaschi y Drago 2010) han sido reportadas de aves podicipodiformes (Zamparo, *et al.,* 2005; Faltýnková *et al.,* 2008; Lunaschi y Drago 2010, Pinto et al 2013), algunas de cuyas especies se encuentran en los embalses Campo Alegre (*Podiceps rolland, P. major, Podylimbus podiceps*) y Puerta de Díaz (Monasterio de Gonzo *et al.,* 2008).

En la Región Neotropical el único ciclo conocido es el de *N. novemdecim* y su sinónimo *N. caribbensis* que fue completado experimentalmente (Nasir *et al.,* 1972, Nassi, 1980).

Las cercarias de *Neopetasiger* sp. aquí descriptas presentan diferencias morfométricas con otras cercarias del género procedentes de gasterópodos de varias especies de *Biomphalaria* de América del Sur, entre ellas el tamaño del cuerpo y de la cola y la proporción entre ambas medidas; también hay diferencias entre redias y metacercarias (ver Pinto *et al.,* 2013). Hay también diferencias morfométricas entre las cercarias encontradas en ambos embalses de Salta. Las diferencias, sin embargo, no son concluyentes para establecer si las cercarias son o no conespecíficas, ya que podrían ser variaciones debidas a la utilización de distintas especies hospedadoras intermediarias primarias o a distintos procedimientos de fijación. Son necesarios estudios moleculares para clarificar la identidad taxonómica de las cercarias de *Neopetasiger*.

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue 1957

Superfamilia Plagiorchioidea Lühe, 1901

Familia Cephalogonimidae Looss, 1899

Género cf. *Cephalogonimus*

Cf. Cephalogonimus sp.

Hospedador: *Biomphalaria tenagophila*

Sitio: charco de Tres Palmeras

Prevalencia: 0,4% (11:2864)

Esporoquistes (Fig. 3A): N=5. Alargados, de color naranja-rojizo intenso, 984 (714-1375) x 122 (80-141), con 10-14 cercarias inmaduras, 2-3 maduras y algunas masas de células germinales; contienen algunas metacercarias propias enquistadas. Se ubican en la glándula digestiva del caracol.

Cercarias (Fig. 3B-C): N=20. Tipo xifidiocercarias (cercarias con estilete). Tegumento grueso cubierto densamente con espinas. Cuerpo de 209 (162-240) x 70 (47-90). Seis pares de pelos sensitivos: dos pares anterolaterales a nivel de la ventosa oral, dos laterales –entre el nivel de la faringe y la ventosa ventral- y dos posterolaterales, a nivel de la vesícula excretora. Ventosa oral de 42 (37-45) x 41 (37-45). Ventosa ventral de 43 (30-47) x 41 (35-45). Estilete simple, delgado, con bulbo basal, de 16 (15-17) x 5. Prefaringe presente, faringe desarrollada, esófago corto, ciegos intestinales septados que superan apenas el borde posterior de la ventosa ventral. Siete pares de glándulas de penetración, anterolaterales a la ventosa ventral; sus conductos desembocan cerca del extremo anterior del estilete. Glándulas cistógenas distribuidas por todo el cuerpo. Rudimentos germinales posteriores a la ventosa ventral. Vesícula excretora en forma de “Y”, con brazos cortos que no llegan al borde posterior de la ventosa ventral. Se observaron cuatro pares de células flamígeras. En la base de la cola presentan un par de bolsas caudales de gruesas paredes con 5-6 espinas. Cola simple, 165 (125-187), con tegumento sin espinas y sin velo natatorio.

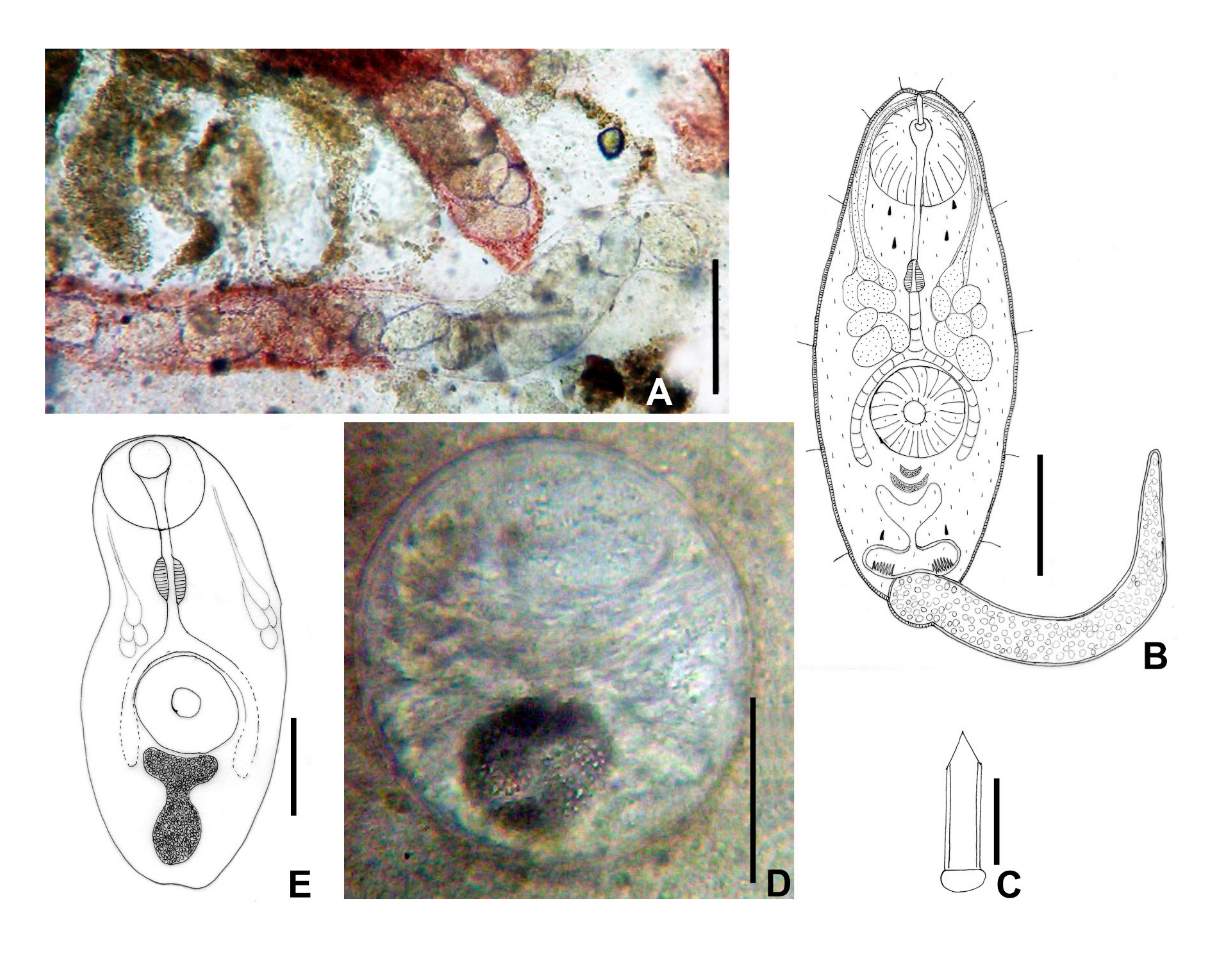


Figura 3. Cf. *Cephalogonimus* sp. **A.** Esporoquiste *in vivo* de infección natural de *Biomphalaria tenagophila*. **B.** Cercaria. **C.** Detalle del estilete. **D.** Quiste *in vivo* 2 días PE en renacuajo. **E.** Metacercaria 2 días PE. Escala A: 100 µm; B, D, E: 50 µm; C: 10 µm.

Comportamiento.: Las cercarias emergen preferentemente durante la noche. Nadan activamente con el cuerpo y cola curvados en forma de "U". Viven por un período de 48 h. Muestran fototaxismo negativo.

Infecciones experimentales: Se expusieron cercarias a renacuajos de *Rhinella arenarum, Leptodactylus* sp. y *Pleurodema borellii.* Se recuperaron numerosas metacercarias de la cavidad branquial y tejidos que rodean la boca. En un metamorfo expuesto a xifidiocercarias disecado a 10 días PE se observaron más de 80 metacercarias maduras entre los pulmones en formación y en la cavidad visceral. Las cercarias expuestas a ejemplares de gasterópodos *Gundlachia concéntrica* (Ancylidae) y *Physa acuta* (Physidae) se enquistaron en el pie. Las cercarias expuestas a larvas de dípteros y de efemerópteros y a ejemplares de *B. tenagophila* no penetraron en ellos.

Metacercarias (Fig. 3D): N=10. Quistes obtenidos experimentalmente 6 días PE casi esféricos, 120 (115-125) x 107 (93-115), de pared delgada; en las metacercarias recién enquistadas y durante un día PE se distingue aún el estilete. A 2 días PE los quistes están maduros, no se distingue el estilete y la vesícula excretora se observa de forma redondeada y llena de gránulos oscuros; en las metacercarias desenquistadas se distingue la vesícula excretora con forma de "Y", con un tronco grueso y corto que se bifurca en dos brazos también cortos y gruesos.

Infecciones experimentales. Las metacercarias maduras obtenidas experimentalmente en renacuajos *Leptodactylus* sp. se proporcionaron a 10 ejemplares de mojarras (*Astyanax* spp. y *Bryconnamericus thomasi*)*, 2* anguilas juveniles (*Synbranchus marmoratus*), 1 pez dorado (*Carassius auratus*)*,* 2 madrecitas (*Jenynsia* sp.) 4 sapos juveniles y 1 adulto (*Rhinella arenarum*), 4 patitos (*A. platyrhinchos*), 2 pollitos (*Gallus* domesticus) y 5 ratones (*Mus musculus*). No se recuperaron adultos en ninguno de los animales expuestos.

Comentarios. En Argentina se han descripto xifidiocercarias que emergen de pulmonados (Ostrowski de Núñez 1974, 1983, Ostrowski de Núñez *et al.,* 1991, Martorelli, 2003) pero difieren de la aquí descripta en características morfológicas (tamaño, presencia de espinas, velo natatorio y forma del estilete) y eto-ecológicas (ritmo de emergencia, comportamiento en el agua y hospedadores intermediarios secundarios).

En consonancia con la utilización de larvas de anfibios como segundos hospedadores intermediarios, podría postularse que estas xifidiocercarias pertenecen a la familia Cephalogonimidae, que contiene digeneos parásitos del tracto digestivo de peces, anfibios y reptiles de América, África y Asia cuyos adultos son pequeños, con espinas y con vesícula excretora en forma de "Y" (Jones & Bray, 2008), caracteres compartidos con las cercarias y metacercarias aquí descriptas. El género *Cephalogonimus* cuenta con ciclos dilucidados experimentalmente de *C. americanus* y *C. vesicaudus*, ambas registradas en América del Norte y que utilizan gasterópodos pulmonados *Helisoma* y renacuajos como primer y segundo hospedador intermediario y anfibios adultos y tortugas como hospedadores definitivos, respectivamente. Los esporoquistes y cercarias tienen una organización similar a los aquí encontrados, aunque difieren en tamaño, al igual que las metacercarias, que son más grandes en las especies de América del Norte, ubicándose en las vísceras (*C. americanus*) y en la piel (*C. vesicaudus*) (Lang, 1968, Dronen & Underwood, 1977). La semejanza morfológica, morfométrica y en el uso de los hospedadores intermediarios permiten identificar provisoriamente a las larvas encontradas en Salta como cf. *Cephalogonimus* sp., aunque se requiere el análisis de secuencias genéticas para corroborarlo.

DISCUSIÓN

Las descripciones de cercarias y otros estadios larvales de trematodes digeneos aquí realizadas contribuyen al conocimiento de ciclos vitales alogénicos que se desarrollan en el noroeste argentino. Resta la secuenciación de marcadores moleculares y su comparación con datos de *Drepanocephalus, Neopetasiger, Cephalogonimus* y géneros filogenéticamente cercanos publicados en GenBank para complementar las caracterizaciones morfológicas; es necesaria además la búsqueda de los adultos en aves de la zona para establecer los vínculos entre éstos y los estadios larvales.

La familia Echinostomatidae ha sido estudiada con un enfoque integrativo por Tkach *et al.* (2016), dando como resultado una reubicación de géneros y subfamilias que aporta claridad en el ordenamiento sistemático; así, las especies de *Petasiger* y *Neopetasiger* han sido reordenadas, ya que el subgénero *Neopetasiger,* erigido por Bashkirova en 1941, ascendió a género para agrupar echinostomátidos con 19 espinas, cantidad que presentan las cercarias aquí descriptas; por otra parte han clarificado el estatus de *Drepanocephalus* junto al trabajo de Pinto *et al.* (2015), quienes abordan la descripción de dos especies de este género en América del Sur, también con un enfoque integrativo. El estudio de las xifidiocercarias resultó dificultoso dada su muy baja prevalencia y debido a la complejidad de sus estructuras, pequeño tamaño, cortísimo tiempo de vida y alta motilidad, como también lo explican Shchenkov *et al.* (2022); pese a ello fue posible su asignación a la familia Cephalogonimidae y, con cierta probabilidad, a *Cephalogonimus* sp. por las características morfológicas y ecológicas compartidas entre las larvas analizadas en este trabajo y las de 2 especies

con ciclos experimentales dilucidados por Lang (1968) y Dronen & Underwood (1977); estudios moleculares probablemente podrían indicar que se trata de una especie diferente a las reportadas para América del Norte.

CONCLUSIÓN

Las descripciones de la biología de las larvas de 3 taxones de trematodes plagiórquidos asociados a los moluscos planórbidos *B. tenagophila* y *B. orbignyi* en 3 ambientes dulceacuícolas de Salta aportan al conocimiento de la diversidad de helmintos parásitos de fauna silvestre de la región Neotropical. Futuros estudios empleando marcadores moleculares serán de utilidad para establecer las especies a las que pertenecen las larvas aquí descriptas. El presente trabajo mejora el conocimiento sobre las interacciones que se desarrollan en las comunidades acuáticas de la zona, caracterizando el comportamiento de las larvas e identificando asociaciones parásito-hospedador.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta por los subsidios otorgados, a la Facultad de Ciencias Naturales por el apoyo, a Daniel Paredes por su acompañamiento en los muestreos, a Carolina Davies por la lectura crítica del manuscrito, a la editora de la revista y equipo y a los revisores por sus valiosas sugerencias.

REFERENCIAS

Blasco-Costa, I., Cutmore, S. C., Miller, T. L., & Nolan, M. J. (2016). Molecular approaches to trematode systematics: 'best practice' and implications for future study. *Systematic Parasitology*, 93(3), 295–306. https://doi.org/10.1007/s11230-016-9631-2

Blasco-Costa, I., & Poulin, R. (2017). Parasite life-cycle studies: a plea to resurrect an old parasitological tradition. *Journal of Helminthology*, 91(6), 647-656. https://doi.org/10.1017/S0022149X16000924

Benesh, D. P. (2016). Autonomy and integration in complex parasite life cycles. *Parasitology*, 143(14), 1824-1846. https://doi.org/10.1017/S0031182016001311

Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.,* Revisited. *Journal of Parasitology*, 83, 575-583.

Bush, A. O., Fernandez, J. C., Esch, G. W., & Seed, J. R. (2001). *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites*. (1º Ed). Cambridge University Press. United Kingdom.

Choudhury, A., Aguirre-Macedo, M. L., Curran, S. S., Ostrowski de Núñez, M., Overstreet, R. M., Pérez-Ponce de León, G. & Portes Santos, C. (2016). Trematode diversity in freshwater fishes of the Globe II: "New World". *Systematic Parasitology*, 93(3), 271–282. https://doi.org/10.1007/s11230-016-9632-1

Cribb, T. H., Bray, R. A., Olson, P. D., & Littlewood, D. T. (2003). Life cycle evolution in the Digenea: a new perspective from phylogeny. *Advances in Parasitology*, 54, 197–254. https://doi.org/10.1016/s0065-308x(03)54004-0

Drago, F. B., & Lunaschi, L. I. (2011). Digenean parasites of Ciconiiform birds from Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(1), 77-83. https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.1.374

Drago, F. B., Lunaschi, L. I., & Draghi, R. (2014). Digenean fauna in raptors from northeastern Argentina, with the description of a new species of *Strigea* (Digenea: Strigeidae). *Zootaxa*, *3785*, 258–270. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3785.2.8

Dronen, N. O., & Underwood, H. T. (1977). The Life Cycle of *Cephalogonimus vesicaudus* (Digenea: Cephalogonimidae) from *Trionyx spiniferus* from Texas. *Proceedings of the Helminthological Society*, 44(2), 198-200.

Esch, G. W., Kennedy, C. R., Bush, A. O., & Aho, J. M. (1988). Patterns in helminth communities in freshwater fish in Great Britain: alternative strategies for colonization. *Parasitology*, 96, 519–532. https://doi.org/10.1017/s003118200008015x

Faltýnková, A., Gibson D. I., & Kostadinova A. (2008). A revision of *Petasiger* Dietz, 1909 (Digenea: Echinostomatidae) and a key to its species. *Systematic Parasitology*, 71, 1–40. https://doi.org/10.1007/s11230-008-9146-6

Faltýnková, A., Nasincová, V., & Kablásková, L. (2008). Larval trematodes (Digenea) of planorbid snails (Gastropoda: Pulmonata) in Central Europe: a survey of species and key to their identification. *Systematic Parasitology*, 69(3), 155–178. https://doi.org/10.1007/s11230-007-9127-1

Galaktionov, K. V., & Dobrovolskij, A. A. (2003). *The biology and evolution of trematodes: an essay on the biology, morphology, life cycles,*

transmissions, and evolution of digenetic trematodes (1º Ed.), KAP. United Kingdom.

Hamann, M. I., Fernández, M. V., & González, C. E. (2019). Metacercariae of Strigeidae Parasitizing Amphibians of the Chaco Region in Argentina. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias,* 91(1), e20180044. https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180044

Huguenin, A., Depaquit, J., Villena, I., & Ferté, H. (2019). MALDI-TOF mass spectrometry: A new tool for rapid identification of cercariae (Trematoda, Digenea). *Parasite*. 26,11. https://doi.org/10.1051/parasite/2019011

Jones, A., & Bray, R. (2008). Family Cephalogonimidae Looss, 1899. En: R. A. Bray, D. I. Gibson, & A. Jones (Eds.), *Keys to the trematoda*. Volume 3 (pp. 331-337). CABI Publishing and the Natural History Museum. United Kingdom. https://doi.org/10.1079/9780851995885.0331

Lang, B. Z. (1968). The life cycle of *Cephalogonimus americanus* Stafford, 1902 (Trematoda: Cephalogonimidae). *Journal of Parasitology*, 54, 945-949.

López-Jiménez, A., González-García, M. T., Andrade-Gómez, L., & García-Varela, M. (2023). Phylogenetic analyses based on molecular and morphological data reveal a new species of *Strigea* Abildgaard, 1790 (Digenea: Strigeidae) and taxonomic changes in strigeids infecting Neotropical birds of prey. *Journal of Helminthology*, 97, e35, 1–15. https://doi.org/10.1017/S0022149X23000196

Lunaschi, L. I., & Drago, F. B. (2009). Digenean parasites of six species of birds from Formosa Province, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80(1), 39-46. https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2009.001.581

Lunaschi, L. I., & Drago, F. B. (2010). A new species of *Petasiger* (Digenea, Echinostomatidae) parasitizing *Podiceps major* and *Rollandia rolland* (Aves, Podicipedidae) from Buenos Aires Province, Argentina. *Acta Parasitologica***,** 55, 230–234. https://doi.org/10.2478/s11686-010-0033-3

Lunaschi L., & Drago, F. (2012). Digenean parasites of Cariama cristata (Aves, Gruiformes) from Formosa Province, Argentina, with the description of a new species of the genus Strigea. *Acta Parasitologica*, 57(1), 26–33. https://doi.org/10.2478/s11686-012-0004-y

Martorelli, S. R. 2003. *Manual de reconocimiento de cercarias, con una introducción al conocimiento de los Digeneos. Cercarias parásitas de Biomphalaria spp. en el área de influencia de la represa de Salto Grande. Universidad Nacional de La Plata*. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina. http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/30496

Merlo, M. J., Parietti, M., Fernández, M. V., Flores, V., & Davies, D. (2022). A checklist of larval Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) in molluscs from inland waters of Argentina: one hundred years of research. *Journal of Helminthology*, 96, e32. https://doi.org/10.1017/S0022149X2100081X

Monasterio de Gonzo, G., P. M. Palavecino, & Mosqueira, M. E. (2008). *Vertebrados y ambientes de la provincia de Salta*. EUNSa. Argentina.

Niewiadomska, K. (2002). Family Strigeidae Railliet, 1919. En: D. I. Gibson, A. Jones & R. A. Bray (Eds.), *Keys to the trematoda*. Volume 1 (pp. 231-242) CABI Publishing and The Natural History Museum. United Kingdom.

Nasincová, V., Scholz, T. & Moravec, F. (1994). Redescription of *Petasiger exaeretus* Dietz, 1909 and *P. phalacrocoracis* (Yamaguti, 1939) (Trematoda: Echinostomatidae), parasites of cormorants. *Systematic Parasitology*, 27:139-147. https://doi.org/10.1007/BF00012272

Nasir, P., G. González T. & Díaz, M. T. (1972). Freshwater larval Trematodes. XXX. Life cycle of *Petasiger novemdecim* Lutz, 1928. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 39(2), 162-168.

Nassi, H. (1980). Données expérimentales sur le cycle biologique de *Petasiger caribbensis* n. sp. (Trematoda: Echinostomatidae) parasite larvaire de *Biomphalaria glabrata* en Guadeloupe. *Annales de Parasitologie*, 55(1), 41-55.

Nolan, M. J., & Cribb, T. H. (2005). The use and implications of ribosomal DNA sequencing for the discrimination of digenean species. *Advances in Parasitology*, 60, 101–163. https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)60002-4

Olson, P. D., & Tkach, V. V. (2005). Advances and trends in the molecular systematics of the parasitic Platyhelminthes. *Advances in Parasitology*, 60, 165–243. https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)60003-6

Ostrowski de Núñez, M. (1968). Estudios sobre la fauna parasitaria del biguá, *Phalacrocorax o. olivaceus*. I. Trematodes pertenecientes a las familias Cathaemasidae y Echinostomatidae. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales B. Rivadavia, Serie Parasitología*, I (2),131-152.

Ostrowski de Núñez, M. (1974). Fauna de agua dulce de la República Argentina. III. Cercarias de la superfamilia Plagiorchioidea (Trematoda). *Neotropica*, 20(62), 67-72.

Ostrowski de Núñez, M. (1977). Fauna de agua dulce de la República Argentina. VIII. Furcocercarias (Trematoda) nuevas de

moluscos de las familias Planorbidae y Ancylidae. *Physis*, 37,117-125.

Ostrowski de Núñez, M., Hamann, M. I. & Rumi, A. (1997). Estudios de trematodes larvales en *Biomphalaria* spp. (Mollusca, Planorbidae) de la localidad de San Roque, provincia de Corrientes, Argentina. *Physis*, 54, 7-15.

Ostrowski de Núñez, M. (1983). Trematodos larvales de Venezuela. Cercarias pertenecientes a la superfamilia Plagiorchioidea. *Anales del Instituto de Biología*, 53(1), 27-38.

Ostrowski de Núñez, M., Hamann, M. I., & Rumi, A. (1991). Population dynamics of planorbid snails from a lenitic biotope in northeastern Argentina. Larval trematodes of *Biomphalaria occidentalis* and analysis of their prevalence and seasonality. *Acta Parasitologica Polonica*, 36 (4), 159-166.

Ostrowski de Núñez, M. (1992). Trematoda. Familias Strigeidae, Diplostomidae, Clinostomidae, Schistosomatidae, Spirorchiidae y Bucephalidae. En: Z. A. de Castellanos (Ed.), *Fauna de agua dulce de la República Argentina*. Volumen 9 Fascículo 1 (pp. 5-55). PROFADU (CONICET).

Pinto, H. A., Mahecha, G. A., & de Melo, A. L. (2013). *Petasiger* Dietz, 1909 (Trematoda: Echinostomatidae) in birds and mollusks from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology*, 22(3), 427–432. https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000300019

Pinto, H. A., Griffin, M. J., Quiniou, S. M., Ware, C., & Melo, A. L. (2016). *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae) as an intermediate host of Drepanocephalus spp. (Trematoda: Echinostomatidae) in Brazil: a morphological and molecular study. *Parasitology Research*, 115(1), 51–62. https://doi.org/10.1007/s00436-015-4469-0

Poulin, R. (2010). The scaling of dose with host body mass and the determinants of success in experimental cercarial infections. *International Journal for Parasitology*, 40 (3), 371-377. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.09.001

Ruiz, J. M. (1952). *Contribuição ao estudo das formas larvárias de trematóides brasileiros. 3. Fauna de Belo Horizonte e Jaboticatubas, Estado de Minas Gerais*. Memórias do Instituto Butantan, 24, 45-62.

Shchenkov, S., Denisova, S., Nesterenko, M., Lebedenkov, V., & Kharytonau, D. (2022). Morphological description and phylogenetic position of xiphidiate cercaria of *Prosthogonimus pellucidus* (Trematoda: Digenea), 19, 425-432. https://doi.org/10.15298/invertzool.19.4.06

Tkach, V. V., Kudlai, O., & Kostadinova, A. (2016). Molecular phylogeny and systematics of the Echinostomatoidea Looss, 1899 (Platyhelminthes: Digenea). *International Journal for Parasitology,* 46(3), 171–185. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.11.001

Toledo, R., Esteban, J. G., & Fried, B. (2009). Chapter 3. Recent advances in the biology of echinostomes. *Advances in Parasitology*, 69, 147–204. https://doi.org/10.1016/S0065-308X(09)69003-5

Yamaguti, S. (1971). Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Vol I y II. (1° Ed.). Keigaku Publishing Co. Japan.

Zamparo, D., Overstreet, R. M, & Brooks, D. R. (2005). A new species of *Petasiger* (Digenea: Echinostomiformes: Echinostomatidae) in the brown pelican, *Pelecanus occidentalis*, (Aves: Pelecaniformes: Pelecanidae), from the area de conservación Guanacaste, Costa Rica. *Journal of Parasitology*, 91(6), 1465-1467. https://doi.org/10.1645/GE-3483.1